

粪便中不同数量的痢疾杆菌在不同环境下保持阳性培养最长时间的探讨

虹 飛 宋長苓 劉福義 陳麗華 陸秀娟

(北京市西城区卫生防疫站)

痢疾細菌学的实验室检验,要求检体新鲜,送检及时;实验証明,陈旧的检体影响检出机率。采用保存液是克服不能及时送检的方法。但若不采用保存液,在夏季一般气温下,粪便排出体外后,放置时间与检出机率的关系如何,是本文所欲探讨的。

一、材料和方法

試驗用福氏志賀氏 2a 型菌 2 株、宋內氏志賀氏菌 3 株和舒密次氏志賀氏菌 2 株。

于 10 克正常人之新鮮粪便(pH 为 7.0—8.6 间)内,按預定量加入实验菌液,混匀,使其加入的菌量成 1亿/克、1 千万/克、1 百万/克及十万/克。加入实验菌后的粪便立即接种 E. M. B. 平板分离培养再,将粪便置于:(1)室外直射阳光下,(2)室外阴凉处,(3)室内明处,(4)室内暗处及(5)冰箱内,按預定时间进行直接分离培养,直到連續分离不再分离出原加入之菌株为止。

二、結 果

表列結果为反复 4 次实验的綜合(冰箱内为 1 次实验結果)。含菌 1 亿/克,在直射阳光下(42—48°C),从加了宋內氏菌、福氏 2a、舒密次氏菌的粪便中得到阳性培养的最长時間依次为 5 小时、4 小时、2 小时。在阴涼处(26—28°C),为 64、48、30 小时。在室内同一温度下的暗处(28—33°C, 粪便容器上罩以黑紙),其結果与明处有所不同:三个菌型分别为 52、30、12 小时。而在明处則依次为 30、12、10 小时。冰箱内(2—8°C)则延长至 216、216、189 小时。

表 1 各型志賀氏菌在不同条件下保存的粪便中保持培养結果陽性的時間(小時)
(用伊紅-美藍琼胶直接分离)

粪便保存 条件	溫 度 (°C)	相对湿度 (%)	粪便內加入的志賀氏菌及其加入量(活菌/克)											
			宋內氏志賀氏菌				福氏志賀氏菌 2a				舒密次氏志賀氏菌			
			10 ⁸	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁵	10 ⁸	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁵	10 ⁸	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁵
室外阳光下	42—48	44	5	2	<1	<1	4	1	<1	0	1	<1	<1	0
室外阴涼处	26—28	44—50	64	24	3	0	48	12	3	0	8	1	1	0
室內明处	28—33	67	30	8	2	0	12	8	2	0	4	2	2	0
室內暗处	28—33	67	52	12	6	0	30	10	2	0	6	2	2	0
冰箱内	2—8	61—70	216	163	139	0	216	139	94	0	114	78	78	0

注:“<1”表示粪便內加入試驗痢疾菌株后立即进行分离培养,可分得原加入的菌株,但在 1 小时即不能分得。
“0”表示立即进行分离未分得原加入的菌株。

可以看出，检出机率与粪便内痢疾菌的含量有明显的关系。

加菌后立即进行分离培养， 37°C 24 小时后大腸菌落与痢疾菌落的比例（直径 90 毫米平皿）是：含痢疾菌 108 个/克者约为 3:2；107 个/克者约为 60:1，106 个/克者全平皿仅有 2—3 个菌落；105 个/克者无可疑菌落生长。随粪便放置时间的延长，两者比例差逐渐增大。以含菌 108 个/克的福氏 2a 型菌在室内暗处为例，加菌后立即分离，大腸菌与痢疾菌落之比为 3:2，放置 3 小时后为 2:1，5 小时后为 5:2，7 小时后为 5:1，9 小时后为 8:1。

实验结果发现：粪便 pH 在 7.2 左右时比 8.6 保持阳性培养为长。而 pH 7.0—7.4 之粪便各次实验结果都相近似。

三、討 論

格·叶·庫尔雅姆斯基曾报告痢疾杆菌在干燥粪便中的生存时间^[1]。张运文氏曾报道痢疾杆菌在西瓜上的生存时限^[2]。上海市卫生防疫站试验痢疾杆菌在布、木、石、玻璃等物体上的生存时间。从上述不同试验结果表明，其生存时间与菌型、条件、物体之不同而各异。粪便中影响痢疾杆菌生存的因素比这些物体更为复杂。如肠道内各种细菌及酵母菌的互相影响，都可能影响痢疾杆菌的生存。

本文的结果不表示痢疾杆菌在粪便内“生存”的绝对时间，而是证明能获得直接分离培养阳性的时问与所含痢疾菌量的关系。因为直接分离培养阴性时并不意味着检体内绝无痢疾菌存在。实验结果证明，在粪便中保持培养结果阳性时间最长的是宋内氏菌，最短的是舒密次氏菌。应当指出，同一菌株，在同一环境下，由于痢疾菌含量的不同，而保持阳性培养的时间大有差别。其含量在 105 个菌/克以下时，虽检体新鲜，用普通分离培养基（E. M. B.）直接分离，很难获得阳性结果。随含菌量的增高，保持阳性培养的时间也愈长。由此可以推想，健康带菌者的检便，若粪便不新鲜是难于获得应有的检出率的。

在不同温度下，结果有明显地差异。光线明暗亦有不同的结果。与上海市防疫站的试验资料有类似现象。在直射阳光下不仅与当时温度有关，太阳辐射更是杀死细菌的重要因素。

诚然，检出机率与含菌量有关，但并非是绝对的；培养基的种类，选择性强弱以及分离接种技术等条件亦属重要。

四、摘 要

1. 选用宋内氏志贺氏菌，福氏志贺氏菌 2a 型和舒密次氏志贺氏菌三个菌型，加入正常新鲜人粪中，在五个不同环境条件下，观察了其保持阳性培养的时间。

2. 试验结果每克粪便内含有痢疾杆菌 10 万个以下时，直接分离培养难于获得阳性；含 1 千万个以上时，通常在 $28\text{--}33^{\circ}\text{C}$ 气温下放置 4—7 小时，用普通分离培养基直接分离仍可获得阳性；含 100 万个时，在上述气温下，若超过 2 小时，检出机率大为降低。

3. 含痢疾菌 1 亿/克的粪便暴露于直射阳光下($42\text{--}48^{\circ}\text{C}$)，保持阳性的最长时间不超过 5 小时；在冰箱内则可延长至 216 小时。

参 考 文 献

- [1] 格·叶·庫尔雅姆斯基: 痢疾流行学講稿, 1958年6月, 北京市卫生防疫站印。
[2] 张运文: 中华卫生杂志, 4:4, 291, 1956年。

THE DURATION FOR FAECAL SPECIMENS KEPT UNDER VARIOUS CONDITIONS TO REMAIN POSITIVE FOR SHIGELLAE IN RELATION TO THE DENSITY OF PATHOGENS IN THE SPECIMENS

HONG FEI, SUNG CHANG-LING, LIU FU-YI,
CHEN LI-HUA & LU HSIU-CHUAN

(West City District Sanitary and Epidemiology Station, Peking)

Shigella sonnei (3 strains), *Shigella dysenteriae* type 2 (2 strains) and *Shigella paradyssenteriae* type 2a (2 strains) were added to fresh normal human faeces in various concentrations. The mixtures were then subjected to various environmental conditions and observed for the maximal length of time during which positive results could be obtained for the isolation of these organisms upon plating on eosinmethylene blue agar.

When dysentery bacilli were added to the faecal specimens at a concentration of 10^5 organisms per gram, they could only be detected at a rare chance even upon immediate plating. When mixtures containing 10^7 or more dysentery bacilli per gram were held at a temperature of 28—33°C and shaded from direct sunlight, the added strains of dysentery bacilli could usually be isolated for 4 to 7 hours. When mixtures containing 10^6 dysentery bacilli per gram were kept under the same conditions, the rate of successful detection was markedly lowered after the second hour.

With specimens containing 10^8 dysentery bacilli per gram, the added strains could be isolated for a duration of not more than 5 hours if the specimens were kept exposed to direct sunlight (42—48°C). However, positive detection could still be obtained at 216 hours from specimens held at refrigerator temperature.